



Институт
высшей нервной
деятельности
и нейрофизиологии
РАН, Москва

Государственный
институт
русского языка
им. А.С. Пушкина,
Москва

Генетика сна и суточных биологических ритмов человека: современные представления

А.Н. Пучкова

Адрес для переписки: Александра Николаевна Пучкова, puchkovaan@gmail.com

В течение последних десятилетий множество исследований было направлено на изучение факторов, влияющих на индивидуальную вариабельность ритмов сна – бодрствования и характеристик сна. В настоящее время уже известны основные компоненты молекулярно-генетического механизма биологических часов, но их тонкая регуляция и независимые факторы, воздействующие на хронотип и сон, остаются предметом активных исследований. В обзоре рассматриваются современные генетические исследования параметров хронотипа и сна на человеке. Фокус работы сосредоточен на нормальной вариабельности параметров сна и хронотипа, а также на нарушениях циркадианного ритма. Особое внимание уделяется генам биологических часов и эффектам их вариабельности в популяции. Кроме того, приводятся основные подходы в генетических исследованиях на человеке, подчеркивается роль мелатонина в регуляции суточной ритмики.

Ключевые слова: генетика, наследственность, хронотип, циркадианные ритмы, параметры сна

Введение

2 октября 2017 г. Нобелевская премия по физиологии и медицине была присуждена J.C. Hall, M. Rosbash, M.W. Young «за открытие молекулярных механизмов, контролирующих циркадианный ритм». Лауреаты независимо друг от друга при изучении плодовой мушки *Drosophila melanogaster* выявили основные молекулярно-генетические механизмы работы биологических часов, контролирующих суточные колебания различных физиологических и поведенческих параметров. В последние годы это направление активно развивалось. Были выявлены механизмы циркадианной

регуляции у многих организмов, установлены связи с регуляцией физиологических процессов.

Циркадианный (лат. *circa* – около, *dies* – день) процесс проявляется как изменение уровня активности, температуры тела, метаболических и других процессов с периодом около 24 часов. Ведущую роль в формировании суточной ритмики играют биологические часы, имеющие сходный принцип работы у всех млекопитающих. Циклическостью активности и работы систем организма управляют супрахиазматические ядра гипоталамуса (СХЯ), в нейронах которых ритм задается взаимодействием на уровне транскрипции, трансля-

ции и деградации белков – регуляторных факторов. Общий принцип работы системы молекулярных часов основан на взаимодействии систем обратной связи транскрипции и трансляции белков. Этот молекулярный механизм актуален не только для клеток СХЯ, но и для других областей мозга и тканей, но именно осциллятор СХЯ является ведущим в регуляции работы организма (рис. 1).

В основной петле взаимодействуют транскрипционные активаторы CLOCK и BMAL1, которые в виде комплекса активируют транскрипцию генов семейства Period (*PER1*, *PER2*, *PER3*) и криптохромов (*CRY1*, *CRY2*). Их белки-транскрипты постепенно накапливаются в цитоплазме в течение дня. Белки PER и CRY попарно связываются, перемещаются в ядро и физически взаимодействуют с комплексом CLOCK/BMAL1, ослабляя собственную транскрипцию. Ночью белки PER и CRY подвергаются убиквитинированию и распадаются в протеосомах. Важную модуляторную роль играет фосфорилирование казеинкиназой 1-эпсилон и 1-дельта. Этот цикл длится приблизительно 24 часа и является ключевым для циркадианных ритмов млекопитающих (см. рис. 1). В дополнительном цикле комплекс CLOCK/BMAL1 активирует транскрипцию ретиноидного орфанного рецептора (RAR-related orphan receptors – ROR – отдельные рецепторы, родственные ре-



цепторам ретиноевой кислоты) и репрессора REV-ERB-альфа, который в свою очередь подавляет транскрипцию BMAL1. Таким образом, CLOCK постоянно экспрессируется в СХЯ, а транскрипция BMAL1 максимальна ночью. Помимо непосредственно элементов молекулярного осциллятора транскрипционные регуляторы молекулярных часов регулируют и многие другие гены, обеспечивая физиологические и поведенческие циркадианные ритмы. Множество эпигенетических, транскрипционных, посттранскрипционных и посттрансляционных механизмов предоставляют возможность регуляции циркадианных колебаний как в мозге, так и в периферических тканях [1].

Генетические исследования на человеке

Большинство молекулярно-генетических исследований на человеке основано на сравнении выраженности того или иного признака у носителей различных полиморфизмов (вариантов) исследуемого гена. Чтобы какой-то вариант гена считался полиморфизмом, он должен быть относительно распространенным в популяции [2]. Большинство исследований сфокусировано на поиске и анализе эффектов однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), при которых различия между аллельными вариантами гена заключаются в одном нуклеотиде. Кроме того, распространен и активно изучается такой тип полиморфизма, как варьирующее число tandemных повторов (Variable Number of Tandem Repeats – VNTR), при котором определенная последовательность нуклеотидов в разных аллелях повторяется разное число раз. Существуют и другие варианты различий между аллелями. Традиционным для психогенетических исследований был и остается близнецовый метод, который позволяет оценить общую наследуемость признака с помощью сравнения его варибельности в парах монозиготных и дизиготных близнецов. В исследованиях, особенно в гене-

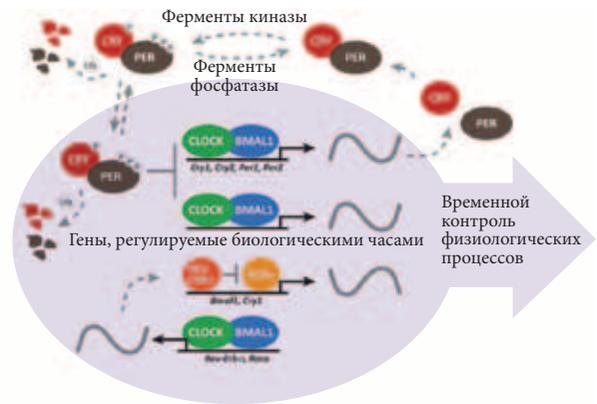
тической эпидемиологии, применяется подход «случай – контроль», который подразумевает сравнение частоты встречаемости полиморфизмов в общепопуляционной выборке и группе с каким-либо заболеванием. Этот метод используется и в общих психогенетических исследованиях при сравнении групп с выраженными различиями в исследуемых особенностях.

В процессе поиска генетических основ индивидуальных особенностей человека широко применяется подход «ген-кандидат». Определение нейрональных сетей и систем, вовлеченных в обеспечение психических функций, дает возможность отбирать связанные с их развитием и функционированием гены для поиска генетических ассоциаций индивидуальной варибельности [3].

Благодаря развитию и удешевлению техники для генетического анализа, а также методов биоинформатики появились и новые подходы. Среди них – полногеномные исследования ассоциаций, направленные на анализ ОНП во всем геноме, что позволяет обнаружить новые гены-кандидаты для более узконаправленных исследований. Поскольку полногеномное исследование ассоциаций в анализе не опирается на гипотезы или теории, интерпретация полученных ассоциаций иногда может вызывать затруднения [4].

Среди наиболее вероятных генов-мишеней можно рассматривать те, которые относятся к метаболическим или регуляторным сетям. При обнаружении связи таких мутаций с популяционной варибельностью интересующих исследователя параметров возможное объяснение механизма действия мутации будет наиболее прямолинейно. Кроме того, исследования мутаций и модификаций этих генов-мишеней на животных моделях позволяют эффективно и подробно описывать результирующие фенотипы, изменения в физиологии и рассматривать молекулярные механизмы.

Для циркадианной регуляции ключевыми объектами являются, в первую очередь, гены системы молекуляр-



Примечание. ERV-ERB-альфа, RORa – регуляторы в дополнительной петле биологических часов, P – фосфат, Ub – убиквитин.

Рис. 1. Общая схема работы молекулярного механизма биологических часов. Основную роль играют два активатора (CLOCK и BMAL1) и два репрессора (PER и CRY)

ных часов и сами элементы системы. Во-вторых, ферменты метаболизма, отвечающие за модификацию и распад основных элементов. В-третьих, регуляторы транскрипции и трансляции, осуществляющие тонкую настройку системы и принимающие сигнал от нее. В случае исследования параметров сна круг поиска значительно расширяется. Поскольку в регуляцию системы сна и бодрствования входит целый ряд медиаторных систем и структур мозга, то в поле зрения исследователей попадают гены рецепторов и транспортеров медиаторов, синтезирующих и расщепляющих их ферментов, модуляторов возбуждения и передачи сигнала. Важную роль играют полиморфизмы в регуляторных областях ДНК, расположенные вне генов и способные влиять на их экспрессию. Но и этот спектр мишеней для поиска не описывает все получаемые результаты. При полногеномном поиске ассоциаций обнаруживаются связи с участками, не относящимися ни к одной из этих групп, механизм действия которых пока не удается объяснить.

Хронотип

Уровень активности метаболических и физиологических процессов находится под контролем биологических часов. Для человека нормальны дневная актив-



ность и ночной сон, однако режим у разных людей неодинаков. Индивидуальные предпочтения времени сна и активности в течение суток описываются в рамках понятия диурнальных предпочтений, или хронотипа человека. Традиционно выделяют ранний («жаворонки», рано встают и ложатся спать), промежуточный и поздний («совы», поздно встают и ложатся спать) хронотип. Среди мужчин чаще встречается поздний хронотип, но эта разница сглаживается с возрастом [5–7].

Согласно близнецовым и семейным исследованиям, вклад наследственности в хронотип составляет, по разным оценкам, 12–42% [8–10], но генетические основы вариативности еще не поняты. Мутации в генах компонентов молекулярных часов и их регуляторов в теории могут приводить к изменению или сдвигу ритмов активности и, соответственно, хронотипа. Сейчас уже обнаружен ряд генетических вариантов, способствующих формированию того или иного хронотипа и даже развитию нарушений ритма сна – бодрствования. Нарушения сна, связанные с циркадианным ритмом, определяются постоянными или периодическими нарушениями ритма сна – бодрствования и делятся на три подтипа: синдром задержки фазы сна, синдром опережающей фазы сна (или синдром семейного опережения фазы сна) и несинхронизированный тип. При синдроме задержки фазы сна цикл сна – бодрствования удлинен, люди значительно позже, чем в норме, засыпают и просыпаются. При синдроме семейного опережения фазы сна основной эпизод сна смещен на более раннее время по отношению к желаемому. При несинхронизированном типе каждые сутки время отхода ко сну сдвигается на 30–60 минут вперед. Полногеномные исследования уже затрагивали вопрос ассоциаций ОНП и параметров хронотипа. В крупном исследовании, включавшем более 89 000 человек и самоотчет о диурнальных предпочтениях, было обнаружено 15 полиморфизмов-кандидатов, ассо-

циированных с хронотипом. Семь были расположены близко к генам, связанным с циркадианной регуляцией: rs12736689 возле гена *RGS16*, rs9479402 возле *VIP*, rs55694368 возле *PER2*, rs35833281 возле *HCRTR2*, rs11545787 возле *RASD1*, rs11121022 возле *PER3*, rs9565309 возле *FBXL3*. *RGS16* – регулятор проведения сигнала рецепторов, сопряженных с G-белками, вовлеченный в работу биологических часов. Вазоинтестинальный пептид *VIP* играет ключевую роль в проведении в СХЯ. *PER2* – элемент биологических часов, полиморфизм расположен в регуляторной области ДНК. *HCRTR2* – ген рецептора орексина типа 2, мутации которого связывают с нарколепсией. *RASD1* – ген активатора проведения сигнала G-белками, его удаление приводит к ослаблению реакции биологических часов на свет у мышей, а сам полиморфизм расположен в регуляторной области. Генетические варианты в области *PER3* ассоциируют с хронотипом, чувствительностью циркадианной системы к свету. Продукт гена *FBXL3* убиквитинирует и таким образом участвует в деградации белков биологических часов *CRY1* и *CRY2*. Еще четыре полиморфизма ассоциированы с генами, потенциально имеющими отношение к циркадианной системе: *PLCL1* – rs1595824, *APH1A* (*CA14*) – rs34714364, *FBXL13* (*FAM185A*) – rs3972456, *NOL4* – rs12965577. Последние четыре обнаруженных ОНП-кандидата в настоящее время не имеют известных ассоциаций близлежащих генов с регуляцией суточного цикла: *TOX3* – rs12927162, *AK5* – rs10493596, *DLX5* (*SHFM1*) – rs2948276, *ALG10B* – rs6582618. В целом в результатах исследования было обнаружено значительное количество элементов циркадианной регуляции и зрительной фототрансдукции. Кроме того, по результатам исследования, утреннему типу испытуемых субъективно требовалось менее восьми часов, чтобы выспаться, у них был снижен риск бессонницы и апноэ сна [11].

Еще одно полногеномное исследование хронотипа включало 100 420 человек из когорты

UK Biobank и оценивало хронотип по результатам самоотчета по одной шкале из четырех категорий. Поиск ассоциаций дал 12 значимых областей в геноме. Была установлена ассоциация с ОНП рядом с геном *PER2*, а также тремя другими генами, связанными с циркадианной регуляцией (*APH1A*, *RGS16* и *FBXL13*). Обнаруженные 12 локусов (rs141175086, rs2050122, rs76681500, rs10157197, rs11445666, rs11895698, rs11708779, rs148750727, rs372229746, rs17311976, rs542675489, rs4821940) объясняли 4,3% вариативности хронотипа. Всего в этих локусах располагается 72 гена-кандидата, среди которых преобладают гены циркадианной регуляции, связанные с психическими расстройствами, нарушениями сна, сплайсосомай и болезнью Альцгеймера. В целом в данной выборке вечерний тип ассоциировался с более молодым возрастом, мужским полом, более длительным сном и большим риском депрессии. Это исследование частично воспроизвело результаты описанной выше работы (воспроизвелись восемь из 15 локусов, и все 15 демонстрировали влияние в одинаковом направлении), что увеличивает достоверность полученных ассоциаций. При совместном анализе обнаружили еще три значимых локуса около генов *PER3*, *VIP* и *TOX* [7]. Для той же когорты, но расширенной выборки в 128 266 человек был проведен еще один полногеномный анализ. Было обнаружено 16 локусов, ассоциированных с хронотипом. Полученные ассоциации проверяли и валидировали на двух других выборках. Оказалось, что варианты расположены поблизости генов, для которых уже была установлена ассоциация с фоторецепцией и циркадианными ритмами. Наиболее сильные ассоциации с rs516134 возле гена *RGS16*, связанного с циркадианной регуляцией, и rs75804782 возле *PER2* [12]. В другом исследовании (n = 749) оценивались сонливость, время отхода ко сну и длительность сна. Единственный расположенный в кодирующей области полиморфизм гена рецептора 1 нейротро-



тида *S NPSR1* rs324981 в минорном варианте проявляется в более позднем времени отхода ко сну. Это может объясняться ролью нейропептида в регуляции сна и бодрствования. Минорный аллель приводит к замене аминокислоты в рецепторе и повышает чувствительность к нейропептиду S [8]. На животных моделях введение нейропептида S снижает количество сна и стимулирует бодрствование [13].

Полногеномные исследования позволяют охватить огромный диапазон генов, но механизм обнаруженных связей не всегда удается объяснить, как видно на примере приведенных работ. Поиск имеющих фенотипические проявления мутаций в системе биологических часов и ее регуляторов дает возможность более эффективно устанавливать механизмы действия полиморфизмов. Пожалуй, наибольшее внимание исследователей генетических основ хроноцикла сосредоточено на одном из генов биологических часов – *PER3*. Сначала была обнаружена связь двух миссенс-мутаций (G647 и R1158) этого гена с синдромом задержки фазы сна [14]. Последующие работы выявили полиморфизм, для которого получены наиболее полные сведения о влиянии на хроноцикл. В кодирующей области гена *PER3* содержится локус с VNTR. В нем последовательность, кодирующая 18 аминокислот, может повторяться четыре (*PER3⁴*) или пять (*PER3⁵*) раз. Данный полиморфизм связан с общими диурнальными предпочтениями. Примерно 10% популяции – гомозиготы по длинному аллелю [15]. В европейской и японской популяциях длинный аллель связывают с утренним типом, а короткий – с вечерним [14, 16]. Неоднозначны ассоциации с нарушениями циркадианной ритмики. В проведенном в Лондоне исследовании короткий аллель ассоциировался с вечерним типом и синдромом задержки фазы сна [16]. В бразильской когорте в Сан-Паулу был получен иной результат: длинный аллель ассоциировался с синдромом задержки фазы сна,

возможно, из-за разницы в широте городов и различий в ответе на сезонные колебания [17]. Однако этот полиморфизм не оказывает влияния на чувствительность к хроническому ограничению сна: наблюдаемые нейроповеденческие изменения одинаковы для обоих аллелей [18, 19]. В наибольшей степени связь между VNTR и диурнальными предпочтениями проявляется у молодых людей 18–29 лет, с возрастом эта ассоциация ослабевает [20].

Вклад вариабельности генов молекулярных часов, в особенности регуляции ритмов сна и бодрствования, не ограничивается описанным VNTR. В колумбийском исследовании полиморфизм rs2640909 гена *PER3* оказался связан с подшкалой «утренний тип» Комплексного опросника утреннего типа. Кроме того, подшкала «утренняя активация» была связана с полиморфизмом другого часового гена – *PER2* rs934945 [21]. Одну из связей удалось подтвердить и на российской выборке: с полиморфизмом rs2640909 ассоциирован параметр утренней активации [22]. Другой ОНП *PER3*, rs228697, оказался ассоциирован с хроноциклом и несинхронизированным типом [23]. На хроноцикл влияют и другие полиморфизмы генов биологических часов: ОНП *PER3* (rs10462020), *ARNTL2* (rs922270), а также в меньшей степени редкие варианты в *FBXL3* (825679097) и *GNβ3* (rs5443) [24]. Аллель гена *CRY1* с.1657+3A>C, приводящий у его продукта к усиленному ингибированию транскрипции, удлиняет период биологических часов до 24,5 часа с частотой до 0,6%. На поведенческом уровне это проявляется как наследуемый по доминантному типу синдром задержки фазы сна [25].

Многие обнаруженные в настоящее время мутации укорачивают период молекулярных часов и сдвигают фазы сна – бодрствования вперед. При этом затрагиваются механизмы регуляции стабильности и активности белков-компонентов биологических часов [26–28]. С синдромом семейного опереже-

ния фазы сна связывают приводящие к снижению стабильности или ускорению деградации мутации в генах элементов биологических часов *CRY2* (A260T), *PER2* (S662G) и *PER3* (P415A/H417R) и регулирующей активность транскрипции и стабильность продукта *PER2* кэзеинкиназы 1-дельта *CK1δ* (T44A) [27, 29]. Этот же вариант *PER3* ассоциирован с более высокими оценками депрессии и сезонного аффективного расстройства. В сочетании со сходными результатами исследований на животных можно предположить, что *PER3* может быть узлом связи биологических часов и эмоциональной регуляции [29].

Исследование полиморфизмов генов-кандидатов, не имеющих отношения к системе биологических часов, также может дополнить картину генетических влияний на хроноцикл. Например, минорные аллели полиморфизмов генов *NPSR1* (rs324981) и транспортера дофамина *SLC6A3* (rs6347) связаны с более поздним хроноциклом в российской выборке [30]. Эффект ОНП *NPSR1* воспроизводит результат полногеномного исследования.

Роль мелатониновой регуляции

Мелатонин – гормон эпифиза, суточные колебания его концентрации хорошо известны и даже используются как маркер оценки циркадианных процессов. Его выработка находится под контролем биологических часов в СХЯ и освещенности (также через СХЯ). У млекопитающих днем уровень мелатонина низкий, но нарастает примерно за два часа до отхода ко сну и достигает максимальных значений ночью. Ближе к пробуждению начинается спад, который завершается после пробуждения. Свет способен блокировать ночную выработку мелатонина и нарушить обычный ритм (рис. 2) [31]. Мелатонин имеет широкий спектр мишеней как в мозге, так и в периферических тканях (см. рис. 2). Его эффекты зависят от преобладающих в тканях рецепторов. Наиболее изучены два связанных с G-белками рецептора: MT1



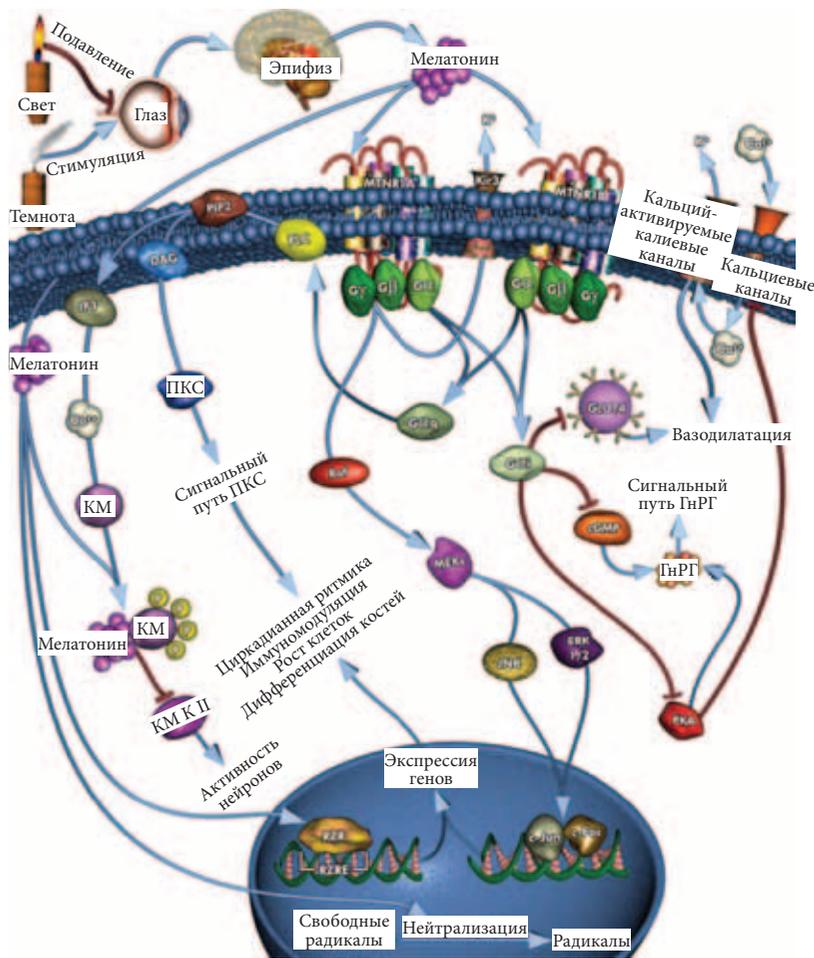
и MT2, которые активируют целый ряд внутриклеточных сигнальных каскадов. Активация MT1 приводит к снижению уровня про-

дукции клеточного мессенджера циклического аденозинмонофосфата и активности протеинкиназ. В результате меняется активность

транскрипционного фактора CREB. Кроме того, следствием этого становятся активация фосфолипазы и изменение направления ионных токов через мембрану клетки. Активация MT2 снижает уровни циклического аденозинмонофосфата и гуанозинмонофосфата, действует на протеинкиназу, влияющую на ионные токи. Экспрессия рецепторов мелатонина и степень его связывания с ними также демонстрируют суточные колебания. Мелатонин в больших концентрациях способен уменьшать число своих рецепторов [32, 33].

Связывание с мелатониновыми рецепторами – не единственный путь действия мелатонина, который непосредственно связывается и с внутриклеточными белками, например кальмодулином, кальретикулином и тубулином. Мелатонин препятствует связыванию кальмодулина с кальцием, нарушая кальмодулиновый путь активации транскрипции. Кроме того, он способен действовать на ретиноидные орфанные рецепторы (RZR/ROR). Эти пути обеспечивают его антипролиферативные и иммуномодулирующие свойства. Еще один рецептор мелатонина, иногда обозначаемый MT3, – фермент кинон редуктаза 2 обеспечивает защиту от окислительного стресса в периферических тканях [34].

Рецепторы MT2 играют роль в регуляции сна: у мышей без этих рецепторов снижается доля медленноволнового сна, мощность дельта- и сигма-ритмов электроэнцефалограммы (ЭЭГ) сна. Они также связаны с патофизиологией тревожных расстройств, депрессии, болезни Альцгеймера [35]. Мелатониновый ритм находится в петле обратной связи с биологическими часами. Действуя через MT1, мелатонин уменьшает активность нейронов СХЯ, в особенности днем. Мелатонин и его агонисты могут сдвигать фазу биологических часов. Направление сдвига зависит от времени приема относительно фазы циркадианного ритма (так называемые фазовые кривые ответа). В целом физиологические эффекты мелатонина могут быть



Примечание. ГнРГ – гонадотропин-рилизинг гормон, КМ – кальмодулин, КМ К II – кальмодулин киназа II, ПКС – протеинкиназа С.

Рис. 2. Схема основных внутриклеточных путей проведения сигнала мелатонина. Свет подавляет, а темнота стимулирует выработку мелатонина, действуя через рецепторы глаза на эпифиз. Мелатонин взаимодействует с рядом мишеней. Представлено взаимодействие с мелатониновыми рецепторами первого (MTNR1A) и второго (MTNR1B) типа, сопряженными с G-белками (G-альфа, G-бета, G-гамма). Они запускают несколько внутриклеточных каскадов с участием веществ – вторичных посредников (PLC, PIP2, DAG, IP3, cGMP). Сигнальный путь ERK включает ГТФазу Raf, киназы MEK, JNK, ERK1/2 и действует на экспрессию генов. Сигнальный путь протеинкиназы С и другие пути воздействия на экспрессию генов приводят к регуляции циркадианной ритмики, иммуномодуляции, регуляции роста клеток и дифференциации костей. MT1 активирует вазодилатацию, блокируя кальций-активируемые калиевые каналы в гладких мышцах. MT2 уменьшает экспрессию транспортера глюкозы GLUT4, что приводит к расширению артерий. Мелатонин взаимодействует с кальмодулином как антагонист, уменьшает активность кальмодулин киназы II и ритмически влияет на активность нейронов. Мелатонин взаимодействует с ядерными рецепторами (RZR), непосредственно влияя на экспрессию генов. Мелатонин – негативный регулятор гонадотропин-рилизинг гормона и его сигнального пути. В более высоких концентрациях мелатонин нейтрализует свободные радикалы, переводя их в неактивную форму



сцеплены с фазой суточного цикла. Мелатонин или синтетические агонисты MT1 и MT2 могут стабилизировать убегающие биологические ритмы и нормализовать нарушения циркадианной ритмики. В настоящее время мелатонин и агонисты MT1 и MT2 используются при нарушениях сна и циркадианных расстройствах. Это перспективные препараты для лечения заболеваний, связанных и с иными функциями мелатонина [33, 36]. Генетические исследования пока не подтверждают ассоциации между генами, ассоциированными с мелатониновой регуляцией и параметрами сна или хронотипа. Однако мелатонин, помимо прочих функций, – важный элемент регуляции и интеграции своей системы суточных осцилляций, и обнаружение таких связей возможно в дальнейшем.

В настоящее время свойство синтетических препаратов мелатонина влиять на циркадианный компонент системы регуляции сна используется для лечения инсомнии и различных форм нарушений биологических ритмов. В рандомизированном плацебоконтролируемом исследовании эффективности препарата мелатонина с замедленным высвобождением Циркадин (в России распространяется фирмой «Бофур Ипсен») продемонстрировано, что при первичной инсомнии прием препарата приводил к уменьшению на 50% времени засыпания и на 50% времени бодрствования в период сна. Эти эффекты достоверно превышали эффекты плацебо [37]. В другом исследовании, основанном на субъективной оценке, было показано улучшение как качества сна, так и утреннего бодрствования при применении Циркадина по сравнению с плацебо [38]. В третьем исследовании на фоне длительной терапии Циркадином (в течение шести месяцев) первичный положительный эффект в виде сокращения времени засыпания и улучшения качества сна по сравнению с плацебо сохранялся и через три месяца лечения, при этом не отмечено негативных побочных эффек-

тов, в том числе привыкания [39]. Наибольший эффект препарата Циркадин достигался при меньшем уровне секреции собственного мелатонина и у людей старше 55 лет, что позволило Британской ассоциации психофармакологии в 2010 г. рекомендовать препарат мелатонина с пролонгированным высвобождением для лечения больных инсомнией в этой возрастной группе [40].

Препараты мелатонина – единственные лекарственные средства, которые применяются в лечении расстройств суточного ритма сна – бодрствования. Согласно рекомендациям Американской академии медицины сна по лечению этих расстройств, опубликованным в 2015 г., мелатонин рекомендован при синдроме задержки фазы сна (как у взрослых, так и у детей), свободно выбранном ритме сна – бодрствования у слепых людей и нерегулярном цикле у детей с неврологическими расстройствами [41]. Что касается именно Циркадина, то положительный эффект этого препарата мелатонина при расстройствах цикла «сон – бодрствование» был подтвержден в исследованиях с участием детей с неврологическими расстройствами и слепых людей [42, 43].

Циркадин назначается в недельной таблетке в дозе 2 мг после приема пищи за один-два часа перед сном. Противопоказан при врожденной непереносимости галактозы, синдроме глюкозо-галактозной мальабсорбции, врожденном дефиците лактазы, аутоиммунных заболеваниях, печеночной недостаточности, детском и подростковом возрасте до 18 лет. Курс лечения может составлять до 13 недель [44].

Длительность и качество сна

Предпочтительная длительность, а также типичная структура и глубина сна – индивидуальные черты, частично находящиеся под влиянием наследственности. Полногеномные исследования на больших выборках указывают на возможные гены-кандидаты, варианты которых ассоциированы с параметрами длительности или

качества сна. Исследования конкретных генетических вариантов или полиморфизмов позволяют воспроизвести эти ассоциации, обнаружить новые и работать с редкими нарушениями или вариантами нормы, для которых полногеномный подход невозможен.

Финское исследование, сочетавшее подход полногеномного анализа, оценки экспрессии и экспериментальной верификации, указывает на два возможных варианта: ОНП rs2031573 возле *KLF6* и rs1037079 между *PCDH7-CENTD1* [45]. Обнаружено, что аллели, связанные с более коротким сном, ассоциируются и с большей экспрессией этих генов, но механизм их участия в регуляции сна пока неясен. В британском полногеномном исследовании удалось воспроизвести обнаруженные в более ранних полногеномных исследованиях ассоциации ОНП гена кальциевого канала L-типа *CACNA1C* (rs16929277) с качеством сна и гена аденозинтрифосфатзависимого калиевого канала *ABCC9* (rs11046209) с длительностью сна [46]. Ген *ABCC9*, а также и ранее связанные с длительностью сна (*TSHZ2*, *FBXO15*) и нарколепсией (*NFATC2*, *SALL4*), и новые гены *SORCS1* и *ELOVL2* оказались ассоциированы с длительностью сна в более позднем американском полногеномном исследовании [47]. К сожалению, для этих генетических вариантов точные молекулярные механизмы работы пока неизвестны.

В полногеномных исследованиях обнаруживаются и не ассоциированные напрямую с каким-либо геном варианты, которые тем не менее связаны с длительностью сна. На базе 18 когорт европейцев обнаружена и подтверждена на афроамериканской группе ассоциация длительности сна и вариаций в межгенной области во второй хромосоме перед геном *PAX8* и особенно однонуклеотидным вариантом rs1823125. Причем носители минорного варианта спали дольше, имели более безопасный метаболический профиль и меньший риск синдрома гиперактивности с дефицитом внимания [48].

СОМНОЛОГИЯ



В полногеномном исследовании 750 человек было обнаружено четыре области, связанных с временем отхода ко сну, и одна – с длительностью сна, хотя эти ассоциации не были ярко выражены. Наиболее отчетливая связь времени отхода ко сну и области на 16-й хромосоме обнаружена рядом с геном казеинкиназы 2-альфа-2 (*CSNK2A2*) – элементом биологических часов у дрозофилы. Пик связи длительности сна включает область на третьей хромосоме возле гена прокинетицина 2 (*PROK2*), который, предположительно, проводит сигнал от СХЯ [8].

Исследования влияния полиморфизмов генов-кандидатов также указывают на влияние наследственности на параметры сна. Например, нейромодулятор аденозин тесно связан с регуляцией гомеостаза сна. Количественный генетический анализ животных моделей и здоровых людей показал, что ряд мутаций генов аденозинергической системы может не приводить к значительным нарушениям, но влиять на параметры сна. Функциональный полиморфизм гена, регулирующего уровень аденозины фермента аденозиндезаминазы *ADA 22 G-A* (минорный вариант *A* приводит к снижению активности фермента), проявляется неодинаковой чувствительностью к кофеину, а также различиями в архитектуре и ЭЭГ сна. Носители *G/A*-генотипа реже просыпались ночью, имели более глубокий и длительный медленноволновой сон, более выраженные дельта-и тета-ритмы в медленноволновом сне. Для полиморфизма гена аденозинового рецептора *A_{2A} ADORA2A 1976T-C* функциональное проявление не было ограничено сном: у носителей *C/C*-генотипа мощность ЭЭГ в диапазоне 7,5–10 Гц больше, чем у носителей *T/T*-генотипа, и во сне, и в бодрствовании [49, 50].

ОНП гена *NPSR1 rs324981* связан не только с хронотипом, но и с качеством сна. В актиграфическом исследовании параметров сна минорный аллель ассоциировался с меньшей длительностью сна и отдыха, но не временем начала отдыха или засыпанием [51]. Кроме того, он был связан с худшим субъективным качеством сна у мужчин [52]. Полученный результат не полностью сочетается с обнаруженной связью с поздним хронотипом, и данный ОНП требует дальнейшего изучения.

Полиморфизмы генов биологических часов могут влиять не только на хронотип, но и на параметры сна. ОНП *rs5443* гена *GNβ3* влиял на общую оценку сна по Питтсбургской шкале качества сна, ОНП *FBXL3 (825679097)* – на качество сна, а редкий полиморфизм гена *PER2 (rs2304672)* – как на качество, так и на общую продолжительность сна [24].

В популяции можно выделить подгруппу людей, для которых естествен короткий сон. Они спят значительно меньше средних значений, но при этом здоровы и не страдают от недостатка сна. Уже обнаружены мутации, ассоциированные с семейными формами такого фенотипа. Они найдены для гена *basic helix-loop-helix family member e41 (BHLHE41 или DEC2)*, который относится к регуляторам элементов молекулярных часов *CLOCK/BMAL1* и *NPAS2/BMAL1*. В двух различных когортах замены *Y362H* и *P385R* в гене *DEC2* приводили к снижению активности белка и появлению малоспящего фенотипа [53, 54].

Один из недостатков многих исследований – использование субъективных опросных данных для получения таких параметров, как время отхода ко сну, длительность и качество сна. Психологическое состояние, образ жизни, возраст и пол, принимаемые препараты и даже

время года могут влиять на сон. Эти факторы сложно проконтролировать при определении фенотипа. Обычно исследования генетических ассоциаций только указывают на возможную связь какого-то нарушения или параметра нормальной вариабельности, на самом деле определяющими будут средовые факторы или особенности выборки. Особую ценность приобретают генетические исследования, в которых помимо субъективной оценки используются и другие методы фенотипирования: актиграфия, регистрация полисомнограммы. Важны воспроизведение результатов в независимых исследованиях и поиск механизмов действия мутации. Проверка на животных моделях – эффективный подход подтверждения полученных результатов.

Человеческая популяция генетически значительно разнообразнее, чем модельные животные, и это создает дополнительный уровень сложности. Исследования последних лет в основном фокусируются на независимых влияниях отдельных полиморфизмов. Не для всех обнаруженных ассоциаций даже известен точно тип наследования фенотипа (доминантный или рецессивный). Если рассматривается моногенные влияния, то следует помнить, что мы наблюдаем их эффект на фоне разнообразной наследственности. Например, люди с нарушениями циркадианной ритмики могут рассматриваться как крайние варианты распределения в популяции, их особенность может быть обусловлена одной мутацией или суммарным воздействием множества полиморфизмов. Вопросы взаимодействия генов крайне сложны и требуют еще более масштабных исследований, чем те, что проводятся сейчас. *

Работа выполнена при поддержке
Российского фонда
фундаментальных исследований
№ 16-06-01054/17-ОГОН.

Литература

1. Partch C.L., Green C.B., Takahashi J.S. Molecular architecture of the mammalian circadian clock // Trends Cell Biol. 2014. Vol. 24. № 2. P. 90–99.
2. Малых С.Б., Егорова М.С., Мешкова Т.А. Психогенетика: учебник для вузов. Т. 1. СПб.: Питер, 2008.
3. Attia J., Ioannidis J.P., Thakkinstian A. et al. How to use an article about genetic association: A: Background concepts // JAMA. 2009. Vol. 301. №1. P. 74–81.



4. *Stranger B.E., Stahl E.A., Raj T.* Progress and promise of genome-wide association studies for human complex trait genetics // *Genetics*. 2011. Vol. 187. № 2. P. 367–383.
5. *Roenneberg T., Wirz-Justice A., Mrosovsky M.* Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes // *J. Biol. Rhythms*. 2003. Vol. 18. № 1. P. 80–90.
6. *Adan A., Natale V.* Gender differences in morningness-eveningness preference // *Chronobiol. Int.* 2002. Vol. 19. № 4. P. 709–720.
7. *Lane J.M., Vlasac I., Anderson S.G. et al.* Genome-wide association analysis identifies novel loci for chronotype in 100,420 individuals from the UK Biobank // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7. ID 10889.
8. *Gottlieb D.J., O'Connor G.T., Wilk J.B.* Genome-wide association of sleep and circadian phenotypes // *BMC Med. Genet.* 2007. Vol. 8. Suppl. 1. P. S9.
9. *Heath A.C., Kendler K.S., Eaves L.J., Martin N.G.* Evidence for genetic influences on sleep disturbance and sleep pattern in twins // *Sleep*. 1990. Vol. 13. № 4. P. 318–335.
10. *Klei L., Reitz P., Miller M. et al.* Heritability of morningness-eveningness and self-report sleep measures in a family-based sample of 521 hutterites // *Chronobiol. Int.* 2005. Vol. 22. № 6. P. 1041–1054.
11. *Hu Y., Shmygelska A., Tran D. et al.* GWAS of 89,283 individuals identifies genetic variants associated with self-reporting of being a morning person // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7. ID 10448.
12. *Jones S.E., Tyrrell J., Wood A.R. et al.* Genome-wide association analyses in 128,266 individuals identifies new morningness and sleep duration loci // *PLOS Genet.* 2016. Vol. 12. № 8. ID e1006125.
13. *Zhao P., Shao Y.F., Zhang M. et al.* Neuropeptide S promotes wakefulness through activation of the posterior hypothalamic histaminergic and orexinergic neurons // *Neuroscience*. 2012. Vol. 207. P. 218–226.
14. *Ebisawa T., Uchiyama M., Kajimura N. et al.* Association of structural polymorphisms in the human period3 gene with delayed sleep phase syndrome // *EMBO Rep.* Vol. 2. № 4. P. 342–346.
15. *Dijk D.J., Archer S.N.* PERIOD3, circadian phenotypes, and sleep homeostasis // *Sleep Med. Rev.* 2010. Vol. 14. № 3. P. 151–160.
16. *Archer S.N., Robilliard D.L., Skene D.J. et al.* A length polymorphism in the circadian clock gene PER3 is linked to delayed sleep phase syndrome and extreme diurnal preference // *Sleep*. 2003. Vol. 26. № 4. P. 413–415.
17. *Pereira D.S., Tufik S., Louzada F.M. et al.* Association of the length polymorphism in the human PER3 gene with the delayed sleep-phase syndrome: does latitude have an influence upon it? // *Sleep*. 2005. Vol. 28. № 1. P. 29–32.
18. *Goel N., Banks S., Mignot E., Dinges D.F.* PER3 polymorphism predicts cumulative sleep homeostatic but not neurobehavioral changes to chronic partial sleep deprivation // *PLoS One*. 2009. Vol. 4. № 6. ID e5874.
19. *Goel N., Dinges D.F.* Predicting risk in space: genetic markers for differential vulnerability to sleep restriction // *Acta Astronaut.* Vol. 77. P. 207–213.
20. *Jones K.H., Ellis J., von Schantz M. et al.* Age-related change in the association between a polymorphism in the PER3 gene and preferred timing of sleep and waking activities // *J. Sleep Res.* 2007. Vol. 16. № 1. P. 12–16.
21. *Ojeda D.A., Perea C.S., Niño C.L. et al.* A novel association of two non-synonymous polymorphisms in PER2 and PER3 genes with specific diurnal preference subscales // *Neurosci. Lett.* 2013. Vol. 553. P. 52–56.
22. *Dorokhov V.B., Puchkova A.N., Taranov A.O. et al.* A pilot replication study of two PER3 single nucleotide polymorphisms as potential genetic markers for morning and evening earliness-lateness // *Biol. Rhythm Res.* 2017. Vol. 48. № 4. P. 531–540.
23. *Hida A., Kitamura S., Katayose Y. et al.* Screening of clock gene polymorphisms demonstrates association of a PER3 polymorphism with morningness-eveningness preference and circadian rhythm sleep disorder // *Sci. Rep.* 2014. Vol. 4. ID 6309.
24. *Parsons M.J., Lester K.J., Barclay N.L. et al.* Polymorphisms in the circadian expressed genes PER3 and ARNTL2 are associated with diurnal preference and GNβ3 with sleep measures // *J. Sleep Res.* 2014. Vol. 23. № 5. P. 595–604.
25. *Patke A., Murphy P.J., Onat O.E. et al.* Mutation of the human circadian clock gene cry1 in familial delayed sleep phase disorder // *Cell.* 2017. Vol. 169. № 2. P. 203–215.
26. *Hirano A., Shi G., Jones C.R. et al.* A cryptochrome 2 mutation yields advanced sleep phase in humans // *Elife*. 2016. Vol. 5. ID e16695.
27. *Shi G., Wu D., Ptáček L.J., Fu Y.H.* Human genetics and sleep behavior // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2017. Vol. 44. P. 43–49.
28. *Xu Y., Toh K.L., Jones C.R. et al.* Modeling of a human circadian mutation yields insights into clock regulation by PER2 // *Cell.* 2007. Vol. 128. № 1. P. 59–70.
29. *Zhang L., Hirano A., Hsu P.K. et al.* A PERIOD3 variant causes a circadian phenotype and is associated with a seasonal mood trait // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2016. Vol. 113. № 11. P. E1536–1544.
30. *Таранов А.О., Пучкова А.Н., Сломинский П.А. и др.* Ассоциации хронотипа, аварийности и полиморфизмов генов, связанных с биологическими часами и дофаминергической системой // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2017. Т. 117. № 4–2. С. 28–33.
31. *Ковальзон В.М.* Основы сомнологии: физиология и нейрохимия цикла «бодрствование – сон». М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012.
32. *Singh M., Jadhav H.R.* Melatonin: functions and ligands // *Drug Discov. Today*. 2014. Vol. 19. № 9. P. 1410–1418.
33. *Pandi-Perumal S.R., Trakht I., Srinivasan V. et al.* Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways // *Prog. Neurobiol.* 2008. Vol. 85. № 3. P. 335–353.
34. *Emet M., Ozcan H., Ozel L. et al.* A review of melatonin, its receptors and drugs // *Eurasian J. Med.* 2016. Vol. 48. № 2. P. 135–141.
35. *Comai S., Gobbi G.* Unveiling the role of melatonin MT2 receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: a novel target in psychopharmacology // *J. Psychiatry Neurosci.* 2014. Vol. 39. № 1. P. 6–21.



36. Liu J., Clough S.J., Hutchinson A.J. et al. MT1 and MT2 melatonin receptors: a therapeutic perspective // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2016. Vol. 56. P. 361–383.
37. Luthringer R., Muzet M., Zisapel N., Staner L. The effect of prolonged-release melatonin on sleep measures and psychomotor performance in elderly patients with insomnia // *Int. Clin. Psychopharmacol.* 2009. Vol. 24. № 5. P. 239–249.
38. Lemoine P., Nir T., Laudon M., Zisapel N. Prolonged-release melatonin improves sleep quality and morning alertness in insomnia patients aged 55 years and older and has no withdrawal effects // *J. Sleep Res.* 2007. Vol. 16. № 4. P. 372–380.
39. Wade A.G., Ford L., Crawford G. et al. Nightly treatment of primary insomnia with prolonged release melatonin for 6 months: a randomized placebo controlled trial on age and endogenous melatonin as predictors of efficacy and safety // *BMC Med.* 2010. Vol. 8. ID 51.
40. Wilson S.J., Nutt D.J., Alford C. et al. British Association for Psychopharmacology consensus statement on evidence-based treatment of insomnia, parasomnias and circadian rhythm disorders // *J. Psychopharmacol.* 2010. Vol. 24. № 11. P. 1577–1601.
41. Auger R.R., Burgess H.J., Emens J.S. et al. Clinical practice guideline for the treatment of intrinsic circadian rhythm sleep-wake disorders: advanced sleep-wake phase disorder (ASWPD), delayed sleep-wake phase disorder (DSWPD), non-24-hour sleep-wake rhythm disorder (N24SWD), and irregular sleep-wake rhythm disorder (ISWRD). An update for 2015. An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline // *J. Clin. Sleep Med.* 2015. Vol. 11. № 10. P. 1199–1236.
42. De Leersnyder H., Zisapel N., Laudon M. Prolonged-release melatonin for children with neurodevelopmental disorders // *Pediatr. Neurol.* 2011. Vol. 45. № 1. P. 23–26.
43. Roth T., Nir T., Zisapel N. Prolonged release melatonin for improving sleep in totally blind subjects: a pilot placebo-controlled multicenter trial // *Nat. Sci. Sleep.* 2015. Vol. 7. P. 13–23.
44. Циркадин (Circadin): описание лекарственного препарата // www.vidal.ru/drugs/circadin__35550.
45. Ollila H.M., Kettunen J., Pietiläinen O. et al. Genome-wide association study of sleep duration in the Finnish population // *J. Sleep Res.* 2014. Vol. 23. № 6. P. 609–618.
46. Parsons M.J., Lester K.J., Barclay N.L. et al. Replication of Genome-Wide Association Studies (GWAS) loci for sleep in the British G1219 cohort // *Am. J. Med. Genet. Part B Neuropsychiatr. Genet.* 2013. Vol. 162B. № 5. P. 431–438.
47. Scheinfeldt L.B., Gharani N., Kasper R.S. et al. Using the Coriell Personalized Medicine Collaborative Data to conduct a genome-wide association study of sleep duration // *Am. J. Med. Genet. Part B // Neuropsychiatr. Genet.* 2015. Vol. 168. № 8. P. 697–705.
48. Gottlieb D.J., Hek K., Chen T. et al. Novel loci associated with usual sleep duration: the CHARGE Consortium Genome-Wide Association Study // *Mol. Psychiatry.* 2015. Vol. 20. № 10. P. 1232–1239.
49. Rétey J.V., Adam M., Honegger E. et al. A functional genetic variation of adenosine deaminase affects the duration and intensity of deep sleep in humans // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102. № 43. P. 15676–15681.
50. Mazzotti D.R., Guindalini C., de Souza A.A.L. et al. Adenosine deaminase polymorphism affects sleep EEG spectral power in a large epidemiological sample // *PLoS One.* 2012. Vol. 7. № 8. ID e44154.
51. Spada J., Sander C., Burkhardt R. et al. Genetic association of objective sleep phenotypes with a functional polymorphism in the neuropeptide S receptor gene // *PLoS One.* 2014. Vol. 9. № 6. ID e98789.
52. Гафаров В.В., Громова Е.А., Гагулин И.В. и др. Полиморфизм гена рецептора нейропептида S (NPSR1) и его ассоциации с нарушением сна в открытой популяции мужчин // *Мир науки, культуры, образования.* 2015. Т. 54. № 5. С. 275–277.
53. Pellegrino R., Kavakli I.H., Goel N. et al. A novel BHLHE41 variant is associated with short sleep and resistance to sleep deprivation in humans // *Sleep.* 2014. Vol. 37. № 8. P. 1327–1336.
54. He Y., Jones C.R., Fujiki N. et al. The transcriptional repressor DEC2 regulates sleep length in mammals // *Science.* 2009. Vol. 325. № 5942. P. 866–870.

СОМНОЛОГИЯ

Human Genetics of Sleep and Circadian Biological Rhythms: Recent Discoveries

A.N. Puchkova

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow
Pushkin State Russian Language Institute, Moscow*

Contact person: Aleksandra Nikolayevna Puchkova, puchkovaan@gmail.com

In the recent decades, many studies have been dedicated to factors that affect the individual variability of sleep-wake rhythms and sleep characteristics. Genetic research has made a significant contribution to this field, since many chronobiological features and sleep parameters reveal a hereditary component. This review covers recent genetic studies of the chronotype and sleep of the parameters in humans. The focus of the article is on normal variability of sleep and chronotype parameters, as well as on circadian rhythm disorders. Particular attention is paid to the biological clock genes and the effects of their variability in the population. In addition, the article highlights the main approaches in genetic research on humans and points to the role of melatonin in the regulation of circadian rhythm.

Key words: genetics, heritability, chronotype, circadian rhythms, sleep parameters